

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Malang. Kegiatan ini dimulai pada bulan April 2019 sampai dengan Oktober 2019.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan sirup jeruk nipis di penelitian ini adalah pisau, blender, corong, telenan, perasan jeruk, saringan, kain saring, kertas saring kompor, panci, pengaduk, baskom, botol gelap, penutup botol, sendok, timbangan, cup plastik, plastik wrap, aluminium foil, kompor, gas LPG.

Alat yang digunakan untuk analisa adalah timbangan analitik (*Ohaus Pioneer*), alat gelas (gelas ukur, *beaker glass*, *elemeyer*, tabung reaksi, labu ukur, pengaduk gelas, pipet tetes, pipet ukur), rak tabung, tube, kuvet, *vorteks* tipe 37600 *Mixer*, *sentrifuse* PLC series tipe Lab 08, termometer, *hand refraktometer* tipe N1-a merk *ATAGO* tipe N-1 α (No. 2211), *colour reader* (Konika Minolta CR-10), viskometer Merk NDJ-1, spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Spectronic Genesys 20*), spektrofotometer UV-1800 Shimadzu, spatula, pH meter tipe Lab 875, pH universal, klem, statif, buret, *hot plate*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeruk nipis yang diperoleh dari pasar Karangploso-Malang, bunga mawar merah varietas lokal diperoleh dari pasar besar Malang, dengan keadaan mahkota bunga mekar sempurna berwarna merah segar, daun jati muda pucuk ke-1 hingga ke-5 berumur 2-3 minggu diperoleh dari perkebunan jati dari Gading-Mojokerto. Bahan yang digunakan untuk pembuatan sirup antara lain gula pasir, air, asam sitrat, CMC

(*Carboxyl Methyl Cellulose*) diperoleh dari toko bahan kue. Sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk analisa antara lain aquades, buffer standar pH 4 dan 7, serbuk anthrone, H_2SO_4 , amilum, larutan iod 0,01N, larutan buffer pH 1 dan 4,5, etanol 96%, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), Larutan KCl, HCl 37%, CaCO_3 , dan Larutan Na-asetat.

3.3 Metodologi Penelitian

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial terdiri 2 faktor yaitu faktor I adalah penambahan perbedaan sumber pigmen antosianin yang terdiri 3 level dan faktor II adalah konsentrasi gula berbeda yang terdiri 3 level. Sehingga diperoleh 12 kombinasi perlakuan yang dianalisa sebanyak 3 kali ulangan. Secara lebih detail kombinasi keduanya dapat dilihat sebagai berikut.

Faktor I adalah perbedaan sumber pigmen antosianin (15% dalam v/v)

P0 = Ekstrak Pigmen Antosianin 0% (kontrol)

P1 = Ekstrak Pigmen Antosianin Mawar Merah

P2 = Ekstrak Pigmen Antosianin Daun Jati Muda

P3 = Ekstrak Pigmen Kombinasi (Mawar Merah : Jati Muda)

Faktor II adalah konsentrasi gula (70%; 75%; 80% dalam b/v)

G1 = 70%

G2 = 75%

G3 = 80%

Tabel 4. Matriks kombinasi penggunaan perbedaan sumber pigmen antosianin dan konsentrasi gula

Perlakuan	Metode Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
G1	P0G1	P1G1	P2G1	P3G1
G2	P0G2	P1G2	P2G2	P3G2
G3	P0G3	P1G3	P2G3	P3G3

Keterangan :

P0G1 = Sumber pigmen antosianin 0% dan konsentrasi gula 70%

P0G2 = Sumber pigmen antosianin 0% dan konsentrasi gula 75%

P0G3 = Sumber pigmen antosianin 0% dan konsentrasi gula 80%

P1G1 = Sumber pigmen antosianin mawar merah 15% dan konsentrasi gula 70%

P1G2 = Sumber pigmen antosianin mawar merah 15% dan konsentrasi gula 75%

P1G3 = Sumber pigmen antosianin mawar merah 15% dan konsentrasi gula 80%

P2G1 = Sumber pigmen antosianin daun jati muda 15% dan konsentrasi gula 70%

P2G2 = Sumber pigmen antosianin daun jati muda 15% dan konsentrasi gula 75%

P2G3 = Sumber pigmen antosianin daun jati muda 15% dan konsentrasi gula 80%

P3G1 = Sumber pigmen kombinasi 15% dan konsentrasi gula 70%

P3G2 = Sumber pigmen kombinasi 15% dan konsentrasi gula 75%

P3G3 = Sumber pigmen kombinasi 15% dan konsentrasi gula 80%

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan pembuatan ekstrak pigmen antosianin bunga mawar merah lokal dan daun jati muda, pengambilan sari jeruk nipis lalu pengaplikasian pada pembuatan sirup. Analisa akan dilakukan pada bahan baku dan produk akhir yang dihasilkan. Ekstrak pigmen antosianin bunga mawar merah lokal dan daun jati muda dilakukan analisa total antosianin, pH, Total Padatan terlarut dan aktivitas antioksidan. Sedangkan pada sari jeruk nipis akan dianalisa

vitamin C, Total Padatan Terlarut, pH dan aktivitas antioksidan. Kemudian dilanjutkan analisa pada sirup jeruk nipis meliputi analisa pH, Total Padatan Terlarut, vitamin C, viskositas, Analisa warna (L, a, b), total gula, total antosianin, aktivitas antioksidan dan uji organoleptik.

3.4.1 Proses Ekstraksi Pigmen

Proses ekstraksi pigmen antosianin Bunga Mawar Merah dengan metode yang dilakukan oleh Rahmawati (2017) dengan dilakukan modifikasi, yaitu menyiapkan mahkota bunga mawar merah lalu dilakukan penimbangan sebanyak 50 gram. Pelarut aquades diukur sebanyak 100 ml dengan menggunakan gelas ukur 100 ml, kemudian dimasukkan ke dalam blender, lalu ditambahkan asam sitrat 2%. Dilakukan pengadukan hingga merata lalu di maserasi didalam lemari pendingin selama 1-2 jam untuk memaksimalkan pembentukan pigmen antosianin. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kain kasah. Maka telah diperoleh ekstrak pigmen (pewarna) antosianin yang siap digunakan. Diagram alir proses ekstraksi pigmen bunga mawar merah dapat dilihat pada Gambar 5.

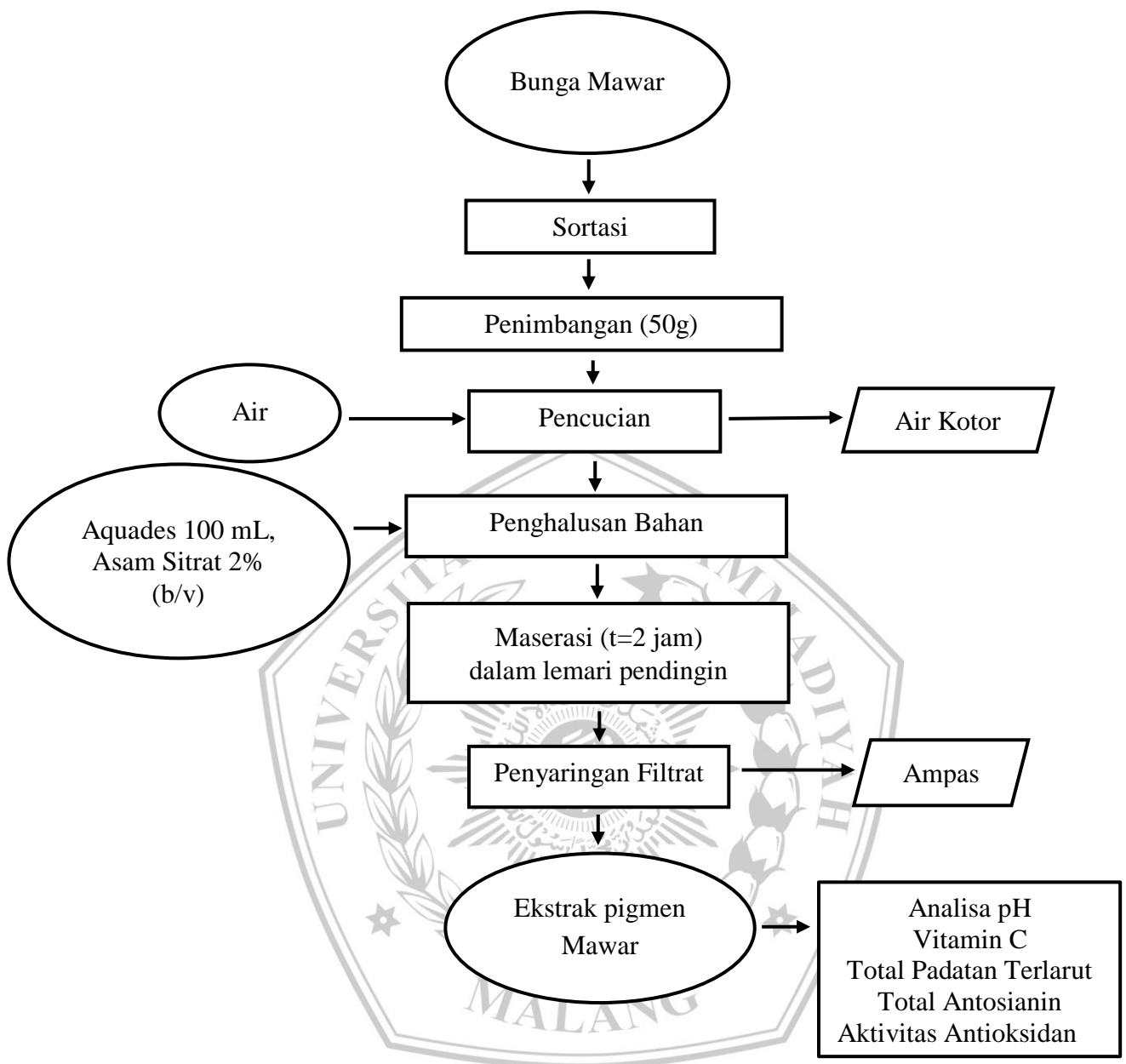
3.4.2 Ekstraksi Pigmen Antosianin Daun Jati Muda

Pembuatan ekstrak pigmen antosianin daun jati muda (daun yang masih berwarna merah kecoklatan) menggunakan metode yang dilakukan oleh Watur (2017) yang dilakukan modifikasi, yaitu daun jati muda dilakukan sortasi terlebih dahulu lalu ditimbang sebanyak 80 gram . dilakukan pencucian hingga bersih dengan air mengalir. Lembaran daun jati muda di *steam* selama 5 menit dengan menggunakan suhu 100⁰C, *steam* ini bertujuan untuk menghilangkan bau langu dari daun jati. Daun jati muda kemudian dipotong kecil-kecil, lalu direndam dengan pelarut aquades sebanyak 100 ml yang ditambahkan dengan asam sitrat 3%. Dilakukan maserasi didalam lemari pendingin selama 2 jam, setelah itu

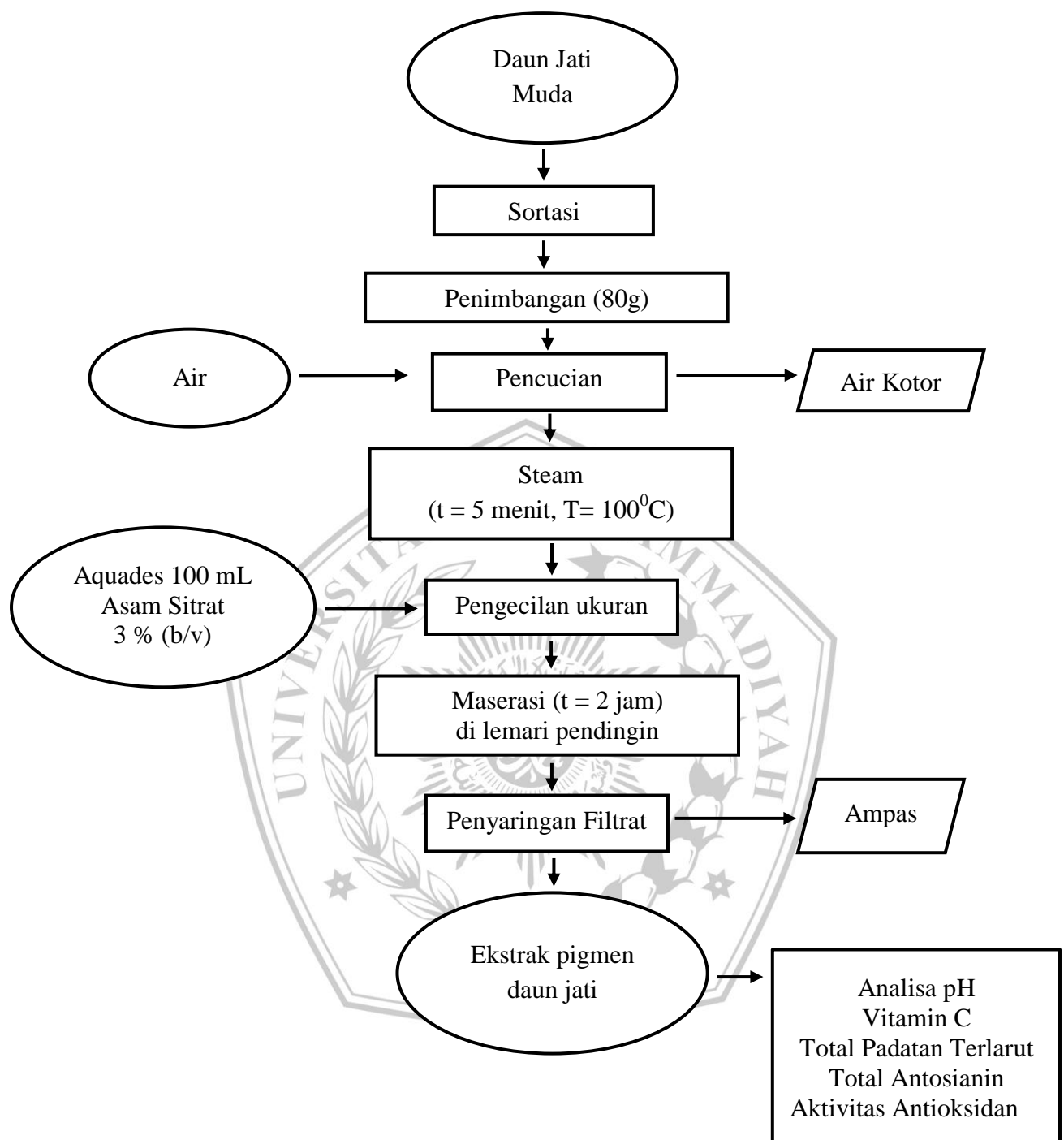
dilakukan penyaringan filtrat pigmen daun jati dengan kain saring. Kemudian telah didapatkan ekstrak pigmen antosianin daun jati. Diagram alir proses ekstraksi pigmen bunga mawar merah dapat dilihat pada Gambar 6.

3.4.3 Proses Pembuatan Sirup Jeruk Nipis (Hamidi, dkk., 2016)

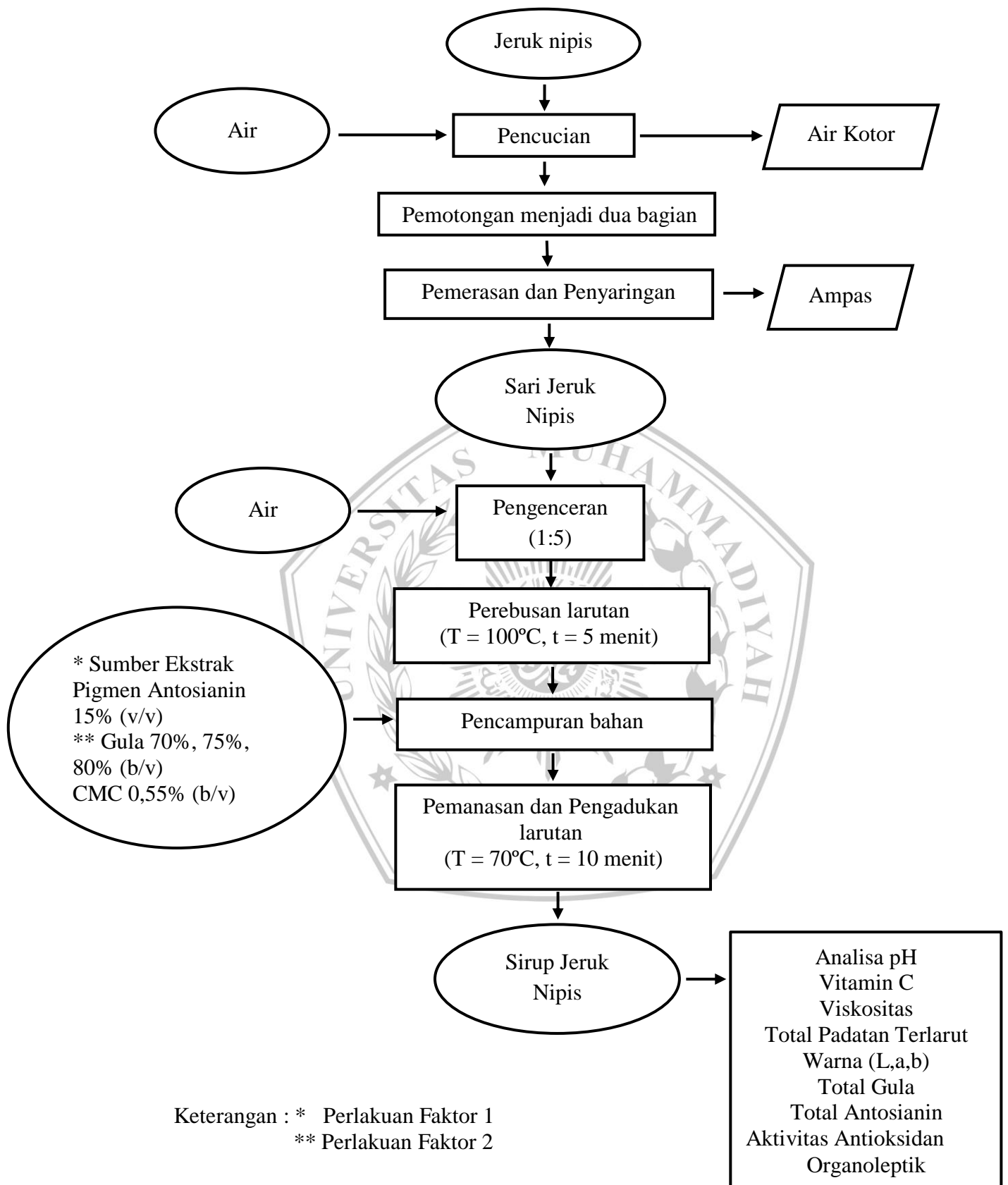
Prosedur pembuatan minuman ekstrak mawar berdasarkan metode dari (Hamidi, dkk., 2016) yang telah dimodifikasi, yakni pertama-tama jeruk nipis dicuci lalu di potong menjadi dua menggunakan pisau, lalu jeruk nipis yang telah dipotong selanjutnya diperas dengan menggunakan alat perasan untuk mengambil filtrat dari jeruk. Kemudian dilakukan proses penyaringan hasil perasan jeruk nipis dengan menggunakan kain saring guna untuk memisahkan bulir dan biji jeruk nipis dengan sarinya lalu diperoleh sari jeruk nipis. Dilakukan pengukuran sari buah sebanyak 20% dengan menggunakan gelas ukur. lalu dilakukan pengenceran sari jeruk nipis dengan melarutkannya dengan air (1:5). Setelah itu langsung direbus larutan dengan menggunakan suhu 100°C selama 5 menit hingga mendidih. Lalu ditambahkan gula dengan konsentrasi yang berbeda (70%, 75%, 80%) dan CMC 0,55%. Dilakukan perebusan larutan sirup dengan suhu 70°C kemudian dengan diaduk selama 10 menit dengan tujuan agar gula larut dan tercampur rata dengan sari jeruk nipis hingga mengental. Diagram alir proses pembuatan sirup jeruk nipis dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 5. Diagram Alir Proses Ekstraksi Pigmen Bunga (Rahmawati, 2017) dengan Modifikasi.



Gambar 6. Diagram Alir Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Daun Jati Muda (Watur, 2017) dengan Modifikasi



Gambar 7. Diagram Alir Proses Pembuatan Sirup Jeruk (Hamidi, dkk., 2016) dengan Modifikasi

3.5 Parameter Pengamatan

Parameter yang digunakan pada pengamatan sirup meliputi analisis kimia yaitu pH, vitamin C, total gula, total antosianin dan aktivitas antioksidan. Analisis fisik pada produk diantaranya viskositas, total padatan terlarut, intensitas warna, dan organoleptik yang meliputi rasa, aroma dan kenampakan.

3.5.1 Analisa pH (Muctadi dkk, 2010)

Adapun prosedur pengukuran nilai pH sampel menggunakan alat pH-meter adalah sebagai berikut :

1. pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer standar pH 4.
2. Elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tisu.
3. Elektroda dicelupkan pada larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil lalu nilai pH dicatat.

3.5.2 Analisa Viskositas (Yuwono dkk, 2001)

1. *Spindle* dipilih sesuai dengan konsentrasi bahan atau tingkat kekentalan bahan.
2. Pangkal *spindle* dimasukkan pada lubang penghubung rotor.
3. Dipilih *spindle* nomor 3 sesuai dengan tingkat kekentalan sampel sirup.
4. Pangkal *spindle* dimasukkan ke dalam lubang penghubung rotor.
5. *Spindle* diturunkan pada bahan hingga dibagian tengah, kemudian diatur kecepatan *spindle* dan ditunggu hingga angka yang ditunjukkan stabil.
6. Dimatikan pengatur kecepatan dan dibaca skala yang ditunjukkan.
7. Diulangi cara yang sama sebanyak 2 kali untuk menemukan data yang valid.
8. Selanjutnya dicatat hasil skala yang terbaca, kemudian dihitung dengan menggunakan rumus viskositas.

$$\text{Viskositas (Cp.s)} = \text{Skala yang Terbaca} \times \text{Nilai Tengah Rpm-Rotor}$$

Keterangan :

Rotor \ Rpm					
	60	30	12	4	
1	1	2	5	10	
2	5	10	25	50	
3	20	40	100	200	
4	100	200	500	1000	

3.5.3 Analisa Total padatan Terlarut (Yuwono dan Susanto, 2001)

1. Disiapkan alat dan bahan, dibuka penutup kaca prisma, lalu ditetaskan setetes aquades menggunakan pipet tetes, ditutup kaca prisma perlahan dan dipastikan aquades memenuhi kaca prisma.
2. Refraktometer diarahkan ke cahaya terang, melihat pembacaan skala dapat melalui lubang teropong, jika skala kabur, putar lubang teropong dan pastikan garis biru tepat pada 0° Brix.
3. Dilakukan kalibrasi, lalu kaca prisma dibuka dan dibersihkan dengan menggunakan bahan lembut dan kering dengan cara diusap satu arah.
4. Dibuka kembali kaca prisma kemudian ditetaskan sampel sirup sebanyak 1 tetes kemudian ditutup kaca prisma.
5. Selanjutnya, dilihat skala melalui lubang teropong, batas garis skala adalah antara garis putih dan biru.

3.5.4 Analisa Warna (*Colour Reader*) (Yuwono dan Susanto, 2001)

Adapun tahapan analisa intensitas warna menggunakan *colour reader* adalah sebagai berikut:

1. Bahan diletakkan pada permukaan yang datar.
2. Lensa pembaca warna diarahkan ke bahan.
3. Ditekan tombol untuk membaca warna.

4. Selanjutnya dilihat hasil warna pada layar dan dicatat nilai intensitas warna (L (tingkat Kecerahan), a (Tingkat Kemerahan), dan b(Tingkat kekuningan).

3.5.5 Analisa Gula Total Metode Anthrone (Rahmasari dkk, 2014)

3.5.5.1 Pembuatan Larutan Kurva Standar

1. Serbuk anthrone ditimbang sebanyak 0,05g dan H₂SO₄ 50 ml menyesuaikan kebutuhan sampel.
2. Larutan glukosa standart dilarutkan 0,20 mg/ml dalam 100 ml aquades.
3. Diambil 10 ml larutan, lalu diencerkan menjadi 100 ml (1 ml = 0,20 mg glukosa).
4. Selanjutnya dipipet ke dalam tabung reaksi blanko atau sampel 0,0, 0,20, 0,40, 0,60, 0,80 dan 1 ml larutan glukosa standar.
5. Ditambahkan aquades hingga total volume masing-masing tabung reaksi 1 ml.
6. Ditambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi Anthrone ke dalam masing – masing tabung reaksi yang telah diisi larutan campuran tadi.
7. Tabung reaksi ditutup dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
8. Air dimasukkan secukupnya pada *beaker glass*, kemudian mendidihkannya menggunakan *hot plate*. Setelah mendidih, masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih tersebut selama 12 menit.
9. Dilakukan pendinginan tabung reaksi dengan cepat menggunakan air mengalir.
10. Larutan dipindahkan ke dalam kuvet, lalu memasukkannya ke dalam *spectofotometer* UV-Vis kemudian dibaca absorbansinya pada $\lambda = 630$ nm.
11. Selanjutnya dibuat kurva hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Total gula dari persamaan : **$y = 0,1047x + 0,2618$**

3.5.5.2 Penetapan Sampel Untuk Penetapan Gula Total

1. Serbuk anthrone ditimbang 0,05g dan H_2SO_4 50 ml menyesuaikan kebutuhan sampel.
2. Ditimbang sampel 1ml dan 75ml aquades, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml dan ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap.
3. Bahan dipanaskan selama 30 menit menggunakan *hotplate*.
4. Ditambahkan aquades sebanyak 24 ml dan 1g CaCO_3 .
5. Diukur pH sampai didapatkan pH 6 menggunakan pH universal.
6. Selanjutnya *beaker glass* yang berisikan air dipanaskan diatas *hotplate* pada suhu 100°C . Setelah mendidih, dimasukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih tersebut selama 30 menit.
7. Dilakukan penyaringan filtrat sampel menggunakan kertas saring.
8. Diambil 1 ml filtrat dan dimasukkan ke dalam labu ukur, lalu ditambah aquades sampai batas tera.
9. Diambil 1 ml larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml anthrone.
10. Dipanaskan lagi pada suhu 100°C selama 12 menit menggunakan *hotplate* lalu dinginkan menggunakan air mengalir.
11. Bahan dimasukkan pada kuvet dan melakukan absorbansi.
12. Dibaca pada Panjang gelombang (λ) 630 nm dan catat hasil pembacaan

$$\text{Total kadar gula(\%)} = \frac{\text{mg Gula Total} \times \text{Fp}}{\text{Berat bahan} \times 1000} \times 100 \%$$

Keterangan:

Fp : Faktor Pengenceran

Mg gula total : nilai x dari kurva standart

3.5.6 Analisis Kadar Antosianin dengan Metode *pH Differential* (AOAC, 2005)

A. Pembuatan Larutan Buffer

1. *Buffer* pH 1

Larutan KCl: 0,025 M KCl (0,186 g dalam 98 mL akuades). Untuk membuat *buffer* pH 1, sebanyak 980 mL larutan KCl 0,025 M ditambahkan dengan 0,63 mL HCl 37%.

2. *Buffer* pH 4,5

Larutan Na-asetat: 0,4 M larutan Na-asetat (5,443 g dalam 96 mL akuades). Untuk membuat *buffer* pH 4,5 sebanyak 960 mL larutan Na-asetat 0,4 M ditambahkan dengan 2 mL HCl 37%.

B. Penentuan Antosianin

1. Sampel dimasukkan dalam pelarut metanol asam dengan perbandingan (1:5) ke dalam *beaker glass*.
2. Larutan sampel dihomogenkan, dan seluruh bagian wadah ditutup dengan penutup gelap.
3. Dilakukan maserasi sampel pada suhu -23°C , selama 1 jam.
4. Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi.
5. Ditambahkan ke dalam tabung reaksi pertama larutan *buffer* pH 1 sebanyak 9 mL dan tabung reaksi kedua ditambahkan larutan *buffer* pH 4,5 sebanyak 9 mL.
6. Dilakukan *scanning* dengan *spektrofotometer* UV-1800 dengan panjang gelombang rentang 200-750 nm pada larutan sampel pada kedua *buffer* untuk mengetahui panjang gelombang maksimal yang dimiliki oleh sampel pewarna.

7. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm pada masing-masing contoh dan hasilnya dikalkulasikan berdasarkan persamaan berikut:

$$A = (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1 - (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 4,5$$

$$\text{Konsentrasi Antosianin (mg/L)} = \frac{[(A \times MW \times DF \times 1000)]}{(\epsilon) \times l}$$

Keterangan :

A = Absorbansi

MW = *Molecular Weight* (Berat Molekul Sianidin Glukosida = 449,2)

DF = *Dilution factor* (Faktor Pengenceran = 10 mL/ 1 mL)

ϵ = *Absortivitas molar*/ koefisien ekstingsi molar (29.600 L cm⁻¹)

l = Lebar kuvet (1 cm)

3.5.7 Analisa RSA (*Radical Sacavenging Activity*) Metode DPPH (Yue dan Xu, 2008)

Prinsip dari uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH, yang dilihat dari absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer (Yu dan Xu, 2008). Adapun tahapan analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebagai berikut:

A. Pembuatan Larutan DPPH

1. Kebutuhan serbuk DPPH dihitung dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Massa (mg)}}{\text{Mr} \times \text{volume (L)}} \times 100 \%$$

2. Dilarutkan serbuk DPPH dengan etanol 196% pada labu ukur hingga batas tera, dan dihomogenkan.
2. Larutan DPPH disimpan pada kondisi gelap dan tertutup rapat pada kondisi dingin, serta sesegera mungkin untuk digunakan.

B. Ekstraksi Bahan Aktif

1. Sampel ditimbang sebanyak 1 g, lalu dimasukkan ke dalam *tube centrifuge*.
2. Ditambahkan Larutan etanol 96% sebanyak 9 mL.
3. Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 *rpm* selama 10 menit.
4. Supernatan dipisahkan untuk uji aktivitas antioksidan.

C. Analisis Aktivitas Antioksidan

1. Supernatan diambil sebanyak 4 mL ke dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan menghomogenkannya.
3. Mulut tabung ditutup dengan *plastic wrap*, dan badan tabung dengan dengan alumunium foil.
4. Sampel didiamkan selama 30 menit dan disimpan pada kondisi gelap.
5. Dibaca Serapan panjang gelombang dengan spektrofotometer *UV Vis* pada $\lambda = 517 \text{ nm}$.
6. Dihitung % inhibisi dengan rumus:

$$\text{Aktivitas Antioksidan (\%)} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

3.5.8 Analisis Kadar Vitamin C Metode Iodimetri (AOAC, 1995)

1. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram.
2. Kemudian dilarutkan pada labu ukur 50 mL hingga batas tera.
3. Dilakukan penyaringan larutan dan dipipet filtratnya sebanyak 5 mL.
4. Ditambahkan beberapa tetes indikator amilum, lalu dititrasi dengan cepat menggunakan larutan iod 0,01N hingga timbul warna biru.
5. Dihitung kandungan vitamin C dapat dengan rumus :

$$\text{Vitamin C (mg/100g)} = \frac{(\text{VI}2 \times 0,88 \times \text{Fp}) \times 100}{\text{Ws (gram)}}$$

Keterangan :

VI_2 = Volume Iodium (mL)

0,88 = 0,88 mg asam askorbat setara dengan 1 mL larutan I_2 0,01N

Fp = Faktor Pengenceran

Ws = Berat Sampel (gram)

3.5.9 Uji Organoleptik (Setyowati, 2014)

Uji organoleptik yang dilakukan meliputi rasa, aroma dan tekstur serta penerimaan keseluruhan oleh panelis. Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel yang masing-masing telah terdapat kode yang berbeda kepada 30 panelis. Kemudian panelis diminta memberikan penilaian terhadap sampel sesuai dengan skala hedonik yang tercantum.

Pengujian sampel ini dilakukan sesuai dengan langkah –langkah berikut :

1. Sampel dituangkan ke dalam cup kecil sebanyak 2 kali sesuai dengan jumlah perlakuan.
2. Cup pertama sampel tidak dilakukan pengenceran, cup kedua dilakukan pengenceran (1:2), lalu disajikan kepada panelis untuk diuji hedonik.
3. Baca basmalah terlebih dahulu sebelum mencicipi sampel.
4. Cicipi sampel satu-persatu dari kiri ke kanan secara berurutan.
5. Panelis memberi penilaian pada kolom respons uji hedonik berdasarkan tingkat kesukaan dengan memberikan nilai yang berkisar antara 1-7 yang tercantum pada Tabel berikut.

Nilai	Rasa	Aroma	Kenampakan
1	Sangat tidak asam	Sangat tidak tajam	Sangat tidak menarik
2	Tidak asam	Tidak tajam	Tidak menarik
3	Agak tidak asam	Agak tidak tajam	Agak tidak menarik
4	Netral	Netral	Netral
5	Agak asam	Agak tajam	Agak menarik
6	Asam	tajam	Menarik
7	Sangat asam	Sangat tajam	Sangat menarik

6. Netralkan indera pengecap dengan air putih setiap selesai mencicipi sampel.

7. Setelah selesai, berikan komentar pada kolom yang terdiri atas 3 pertanyaan.

3.5.10 Analisa Data

Data pengamatan terhadap karakteristik fisiko-kimia dan organoleptik sirup jeruk nipis dianalisis menggunakan analisis Ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf 5% dan 1% untuk mengetahui pengaruh dari kedua perlakuan. Hasil yang menunjukkan adanya pengaruh nyata akan dianalisis menggunakan uji DMRT dengan taraf signifikan $\alpha=5\%$.

